

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年1 月29 日 (29.01.2004)

PCT

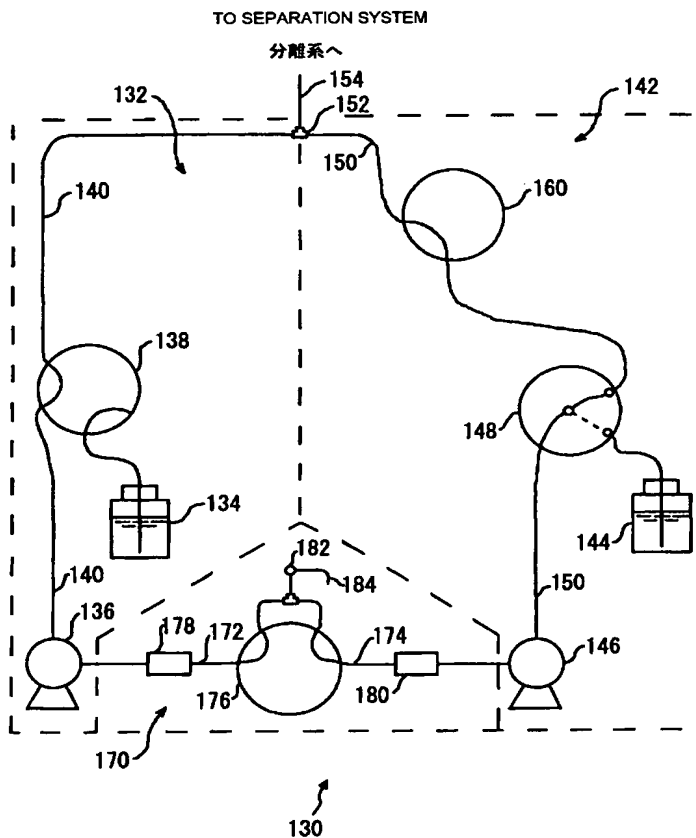
(10) 国際公開番号
WO 2004/010134 A1

- (51) 国際特許分類⁷: G01N 30/34 (72) 発明者; および
(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/009375 (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 工藤 憲一
(22) 国際出願日: 2003 年7 月24 日 (24.07.2003) (KUDO, Kenichi) [JP/JP]; 〒192-0154 東京都 八王子市 下恩方町 1 1 7 4-1 Tokyo (JP). 山内 芳雄
(25) 国際出願の言語: 日本語 (YAMAUCHI, Yoshio) [JP/JP]; 〒191-0052 東京都 日野市 東豊田 3-2 2-1 3 豊田第二コーポラス 4 0 3 Tokyo (JP).
(26) 国際公開の言語: 日本語 (74) 代理人: 岩橋 祐司 (IWAHASHI, Yuji); 〒221-0044 神奈川県 横浜市 神奈川区 東神奈川 1-1 1-8 Kanagawa (JP).
(30) 優先権データ: 特願2002-215415 2002 年7 月24 日 (24.07.2002) JP (81) 指定国 (国内): US.
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社ケーワイエテクノロジーズ (KYA TECHNOLOGIES CORPORATION) [JP/JP]; 〒193-0821 東京都 八王子市 川町 1 6-4 Tokyo (JP). (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

[続葉有]

(54) Title: EQUIPMENT AND METHOD FOR FEEDING LIQUID GRADIENT IN NANO/MICRO LIQUID CHROMATOGRAPHY

(54) 発明の名称: ナノ/マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置および送液方法



(57) Abstract: Equipment and a method for feeding liquid gradient in a nano/micro liquid chromatography capable of improving a liquid feeding performance at the time of mixing of solvent, the equipment and method as the first embodiment of this invention wherein an open/close means (160) capable opening and closing a second solvent flow passage (150) is installed near the solvent mixing part (152) of a liquid feeding system (130), a flow passage ranging from a metering pump (146) at a liquid feeding part (142) to the open/close means (160) is filled with second solvent beforehand, and a proper pressure is added to the solvent so as to suppress the inflow of initial solvent into the second solvent flow passages; the equipment and method as the second embodiment of this invention wherein the liquid with a small compressibility is filled in the flow passage ranging from the metering pump at the liquid feeding part to a part of the subsequent solvent flow passage beforehand the second solvent is filled therein by a necessary amount continuously with the liquid so as to suppress the inflow of the initial solvent into the second solvent flow passage, whereby the liquid feeding performance can be increased.

[続葉有]



添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約: 本発明の目的はナノ/マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液において、溶媒混合時における送液性能を改良することにある。本発明の第一の態様に係る装置および方法によれば、送液系130の溶媒混合部152近傍に第二溶媒流路150を開閉可能な開閉手段160を備え、あらかじめ送液部142の定量ポンプ146から開閉手段160に至る流路を第二溶媒で満たし、且つ該溶媒に適当な圧力を付与しておくこととしたので、初期溶媒の第二溶媒流路への流入を抑えることができる。また、本発明の第二の態様に係る装置および方法によれば、あらかじめ送液部の定量ポンプからそれに続く溶媒流路の一部に渡り圧縮率の小さい液体を満たしておき、該液体に続いて第二溶媒を必要量だけ満たしておくこととしたので、初期溶媒の第二溶媒流路への流入を抑えることができ、送液性能が向上する。

明 細 書

ナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置および送液方法

本出願は、2002年7月24日付け出願の日本国特許出願2002-215415号の優先権を主張しており、ここに折り込まれるものである。

[技術分野]

本発明はナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置および送液方法、特に溶媒混合時における送液性能の改良に関する。

[背景技術]

近年、高速液体クロマトグラフは微量成分の分離、分析のための代表的な手段となっている。図4にその装置構成の一例を示す。この高速液体クロマトグラフ装置10は、移動相溶媒タンク12からポンプ14で溶媒を送液し、インジェクタ16から流路中の溶媒へ微量試料を導入する。そして溶媒の流れにより微量試料は後続のカラム18へ導かれ、温度制御下で各成分に分離される。分離された各成分は、例えば吸光度検出等による検出手段20で検出される。そしてコンピュータ22ではA/D変換された検出信号の処理、解析を行い、一方で装置条件の制御を行う。

そして最近では、極微量成分を高分離能で分離するために低流量、低容量化が進み、流量数十 $\mu\text{l}/\text{min}$ から nl/min のレベルでのナノ／マイクロ液体クロマトグラフの開発が行われている。

このナノ／マイクロ液体クロマトグラフでグラジエント溶離を行うための、従来の送液系を図5に示す。この送液系30では、初期溶媒送液部32において初期溶媒タンク34から定量ポンプ36へ初期溶媒を補給した後、バルブ38を切り替えて該ポンプによりそれに続く初期溶媒流路40を経由して初期溶媒を送液する。

一方、第二溶媒の送液部42において該溶媒のタンク44から定量ポンプ46へ該溶媒を補給した後、バルブ48を切り替えて該ポンプによりそれに続く第二溶媒流路50を経由して該溶媒を送液する。

そして、初期溶媒流路 40 と第二溶媒流路 50 が接続された三方ティ 52（溶媒混合部）で二種の溶媒が所定比率で混合され、混合溶媒は混合溶媒流路 54 を経由して後続する分離系へ送液される。各溶媒の混合比率は各定量ポンプで設定された流量の比率で決定され、コンピュータ等の制御部により制御される。以降、混合溶媒の混合比率を順次変化させて後続する分離系へ送液することにより、グラジエント溶離を行う。

しかしながら、最初に初期溶媒のみを送液する際に、次の二つの理由により、相当量の初期溶媒が第二溶媒の流路 50 へ入り込んでしまう。

第一に、該流路中で最初に第二溶媒で満たされる部分は一部に過ぎず（例えば図 5 ではポンプ 46 からバルブ 48 に至る流路内）、相当量の容積をもつ空の部分（例えば図 5 ではバルブ 48 から三方ティ 52 に至る流路内）へ初期溶媒が入り込んでしまう。

さらに第二に、送液系に後続する分離系の抵抗により、送液系は例えば数十 kg/cm^2 程度の高圧に達し、第二溶媒の流路 50 へ流入した高圧の初期溶媒が、あらかじめ常圧下で貯槽されている第二溶媒を押し込み、第二溶媒が圧縮されてしまう。その結果、第二溶媒の流路内へさらなる量の初期溶媒が入り込んでしまう。例えば、初期溶媒に水、第二溶媒にアセトニトリルを使用した場合、水の圧力でアセトニトリルが圧縮されてしまい相当量の体積収縮が起こる。ナノ／マイクロ液体クロマトグラフでは、流路径および流路容積が極めて小さいために、このような溶媒の圧縮率による要因も、初期溶媒の第二溶媒の流路への流入に大きく影響する。

そして、このように相当量の初期溶媒が第二溶媒の流路内へ入り込んでしまうと、図 6 のグラフに例示したように、所定の時間に初期溶媒のみの送液から混合溶媒の送液へ切り替えるように定量ポンプの操作を制御したにもかかわらず、実際の切り替えが該所定の時間よりも遅延してしまうという問題が生じていた。すなわち、第二溶媒の流路 50 内へ入り込んだ初期溶媒をポンプ 46 で押し出すのに時間を要し、この間は第二溶媒を混合することができず、このような遅延が生じてしまっていた。したがって、分離カラムへの混合溶媒の送液が送れて分離が遅くなったり、或いは測定結果の正確な解析に支障を生じてしまうこともあった。

[発明の開示]

本発明は前記従来技術の課題に鑑み為されたものであり、その目的はナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液において、溶媒混合時における送液性能を改良することにある。

前記目的を達成するために、本発明に係るナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置は、

初期溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く初期溶媒流路を備えた初期溶媒送液部と、

他の溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く溶媒流路を備えた一又は二以上の送液部と、

前記各流路が接続され、且つ該各流路からの各溶媒が所定比率で混合した混合溶媒が通る、後続する分離系への混合液流路が接続された溶媒混合部と、

後続する分離系へ送液する前記混合溶媒の混合比率を制御する制御部を備えたナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置において、

前記他の溶媒を送液する溶媒流路の溶媒混合部近傍に、該流路を開閉可能な開閉手段を備えたことを特徴とする。

さらに、本発明に係る装置は前記装置において、初期溶媒送液部と送液部を液絡する液絡部を備えたことを特徴とする。

さらに、本発明に係る装置は、

初期溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く初期溶媒流路を備えた初期溶媒送液部と、

他の溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く溶媒流路を備えた一又は二以上の送液部と、

前記各流路が接続され、且つ該各流路からの各溶媒が所定比率で混合した混合溶媒が通る、後続する分離系への混合液流路が接続された溶媒混合部と、

後続する分離系へ送液する前記混合溶媒の混合比率を制御する制御部を備えたナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置において、

送液部の定量ポンプ及びそれに続く前記溶媒流路の一部で構成される、あらかじめ圧縮率の小さい液体を満たすための第一貯槽手段と、

第一貯槽手段に続く前記溶媒流路の一部で構成される、あらかじめ前記液体に続いて前記他の溶媒を必要量だけ満たしておくための第二貯槽手段を備えたことを特徴とする。

また、前記目的を達成するために、本発明に係るナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法は、

初期溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く初期溶媒流路を備えた初期溶媒送液部と、

他の溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く溶媒流路を備えた一又は二以上の送液部と、

前記各流路が接続され、且つ該各流路からの各溶媒が所定比率で混合した混合溶媒が通る、後続する分離系への混合液流路が接続された溶媒混合部を備え、

グラジエント溶離を行うため前記混合溶媒の混合比率を順次変化させて後続する分離系へ送液するナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法において、

前記他の溶媒を送液する溶媒流路の、溶媒混合部近傍に該流路を開閉可能な開閉手段を備え、以下のステップ：

開閉手段を閉じ、あらかじめ送液部の定量ポンプから開閉手段に至る流路を前記他の溶媒で満たし、且つ該溶媒に適当な圧力を付与しておく第一ステップ；

初期溶媒を初期溶媒送液部から溶媒混合部を経て後続する分離系へ送液する第二ステップ；

開閉手段を開放し、所定流量で前記他の溶媒を溶媒混合部へ送液し、初期溶媒との所定比率の混合溶媒を後続する分離系へ送液する第三ステップ；を含むことを特徴とする。

さらに、本発明に係る方法は前記方法において、初期溶媒送液部と送液部とを液絡する液絡部を備え、

第一ステップにおける溶媒への圧力付与を、第二ステップにおいて初期溶媒送液部に生じた圧力を該液絡部を介して送液部へ付与することにより行うことを特徴とする。

さらに、本発明に係る方法は、

初期溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く初期溶媒流路を備えた初期溶媒送液部と、

他の溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く溶媒流路を備えた一又は二以上の送液部と、

前記各流路が接続され、且つ該各流路からの各溶媒が所定比率で混合した混合溶媒が通る、後続する分離系への混合液流路が接続された溶媒混合部を備え、

グラジエント溶離を行うため前記混合溶媒の混合比率を順次変化させて後続する分離系へ送液するナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法において、以下のステップ：

あらかじめ送液部の定量ポンプからそれに続く溶媒流路の一部に渡り圧縮率の小さい液体を満たしておく第一ステップ；

前記溶媒流路に、前記液体に続いて前記他の溶媒を必要量だけ満たしておく第二ステップ；

初期溶媒を初期溶媒送液部から溶媒混合部を経て後続する分離系へ送液する第三ステップ；

所定流量で前記他の溶媒を溶媒混合部へ送液し、初期溶媒との所定比率の混合溶媒を後続する分離系へ送液する第四ステップ；を含むことを特徴とする。

また、これらの本発明に係る装置および方法において、前記定量ポンプはシリンジを一回押し切ることにより全溶媒を送液するシリンジ型定量ポンプであることが好適である。

[図面の簡単な説明]

図 1 は、本発明の一実施形態に係る方法を使用する送液系の説明図である。

図 2 は、本発明の一実施形態に係る方法を使用する送液系の説明図である。

図 3 は、本発明の方法に使用されるシリンジポンプの説明図である。

図 4 は、高速液体クロマトグラフ装置の説明図である。

図 5 は、従来の送液系の説明図である。

図 6 は、初期溶媒のみの送液から混合溶媒の送液への切り替え時間についての説明図である。

図7は、圧力計の説明図である。

[発明を実施するための最良の形態]

以下、図面に基づき本発明について説明する。

第一実施形態

図1に本発明の第一実施形態に係る方法を使用する送液系の概略構成を示す。なお、前記従来技術に対応する部分については符号に100を付して表す。この送液系130では、初期溶媒送液部132において初期溶媒タンク134から定量ポンプ136へ初期溶媒を補給した後、バルブ138を切り替えて該ポンプによりそれに続く初期溶媒流路140を経由して初期溶媒を送液する。

一方、第二溶媒の送液部142において該溶媒のタンク144から定量ポンプ146へ該溶媒を補給した後、バルブ148を切り替えて該ポンプによりそれに続く第二溶媒流路150を経由して該溶媒を送液する。

なお、本実施形態では初期溶媒流路140および第二溶媒流路150を得るために、流路径250 μ m以下のキャピラリを使用している。

そして、初期溶媒流路140と第二溶媒流路150が接続された三方ティ152（溶媒混合部）で二種の溶媒が所定比率で混合され、混合溶媒は混合溶媒流路154を経由して後続する分離系へ送液される。各溶媒の混合比率は各定量ポンプで設定された流量の比率で決定され、コンピュータ等の制御部により制御される。以降、混合溶媒の混合比率を順次変化させて後続する分離系へ送液することにより、グラジエント分離を行う。

本実施形態において特徴的なことは、第二溶媒を送液する溶媒流路150の、溶媒混合部152近傍に該流路を開閉可能な開閉手段を設けたことである。本実施形態では、開閉手段としてバルブ160を使用している。このように溶媒混合部152近傍に開閉手段を設けたことにより、前記した課題である初期溶媒の第二溶媒流路150への流入を大幅に抑制できる。すなわち、初期溶媒の流入はバルブ160の手前までの小容量の領域に抑えることができ、バルブ160から定量ポンプ146間の比較的大きな容量を占める流路部分へ初期溶媒が流入することはない。この開閉手段を使用した本発明の方法の各ステップは以下の通りである。

第一ステップ

バルブ 1 6 0 を閉じて流路を遮断した状態で、あらかじめ定量ポンプ 1 4 6 からバルブ 1 6 0 に至る流路を第二溶媒で満たしておく。そして、第二溶媒に、定量ポンプ 1 4 6 の駆動により適当な圧力を付与しておく。このように圧力をあらかじめ付与しておくことで、バルブ 1 6 0 を開放した際の初期溶媒からの圧力により第二溶媒が体積収縮するのを抑制することができる。したがって、それだけ初期溶媒の流路 1 5 0 への流入量は低減される。あらかじめ第二溶媒に付与しておく圧力は、使用する溶媒その他の条件により適宜決定される。

第二ステップ

初期溶媒を初期溶媒送液部 1 3 2 から溶媒混合部 1 5 2 を経て後続する分離系へ送液する。このとき、送液系は後続する分離系の抵抗により、徐々に高圧に達する。本実施形態では、速く高圧状態（例えば 20 kg/cm^2 ）に到達させるために、最初は $500 \mu\text{l/min}$ で送液し、高圧状態へ到達後は 500 nl/min で送液する。

第三ステップ

バルブ 1 6 0 を開放し、所定流量で第二溶媒を溶媒混合部 1 5 2 へ送液し、初期溶媒との所定比率の混合溶媒を後続する分離系へ送液する。本実施形態では、流路 1 5 0 への初期溶媒の流入がバルブ 1 6 0 までの小容量で抑えられ、さらに、あらかじめ第二溶媒へ圧力が付与されているので、第二溶媒の圧縮に起因する流路 1 5 0 への初期溶媒の進入も同時に抑えられる。したがって、初期溶媒のみの送液から混合溶媒の送液へ切り替えるように意図した所定の時間からの遅延を低減することができる。

さらに本実施形態において特徴的なことは、初期溶媒送液部 1 3 2 と送液部 1 4 2 を液絡する液絡部 1 7 0 を設けたことである。前述の第一ステップでは、第二溶媒へ圧力を付与するためにポンプ 1 4 6 を駆動する必要があるが、このように液絡部 1 7 0 を設けたことにより、初期溶媒送液開始後の初期溶媒送液部 1 3 2 の圧力がそのまま第二溶媒送液部 1 4 2 へ伝わり、ポンプ 1 4 6 からバルブ 1 6 0 まで満たされる第

二溶媒へ同じ圧力が付与されるので、圧力バランスをとるために特別な操作を行う必要は全くない。

本実施形態では、液絡部 170 に各溶媒を貯めておくキャピラリ 172, 174 と、バルブ 176 と、圧力計 178, 180 を設けている。あらかじめ、キャピラリ 172 には初期溶媒を、そしてキャピラリ 174 には第二溶媒を貯めておく。そして、初期溶媒を初期溶媒送液部 132 から溶媒混合部 152 を経て後続する分離系へ送液すると共に初期溶媒送液部 132 の圧力は次第に増加し、高圧（例えば 20 kg/cm^2 ）に達する。すると、バルブ 176 を開放した状態では液絡部 170 において初期溶媒と第二溶媒が接するので、この高圧がそのまま第二溶媒送液部 142 へ伝わり、閉じているバルブ 160 までの間に満たされている第二溶媒は同じ圧力を付与される。したがって、前述の第一ステップと同等の効果を得ることができる。

なお、キャピラリ 172, 174 には十分な容量のものを使用しているので、初期溶媒と第二溶媒が接する境界面が、ポンプ 146 やそれに続く流路へ達してしまうことはなく、これらの溶媒が混ざってしまうことはない。また、第三ステップ開始後はバルブ 160 を開放するので、必要であればバルブ 176 はその後閉じて流路を遮断してもよい。また、バルブ 176 から、ストップバルブ 182 を介してドレイン 184 を設けることも好適である。

なお、三種以上の溶媒を使用する場合には、送液部 142 に加えて他の溶媒を送液する各送液部を同じ態様で溶媒混合部 152 に接続して用いることができ、この場合、複数の各送液部間を液絡することもできる。

圧力計

図 1 で使用する圧力計 178, 180 の概略構造を図 7 に示す。同図において、移動相溶媒が定流量で送液されている条件下では、溶媒流路 402 とキャピラリ 404 の結合部では、壁面 406 により送液流れに対する抵抗が生じる。これにより、溶媒の流れの方向 408 への圧送による、前記結合部付近の流路壁面への圧力が増大する。この増大した壁面への圧力を圧力計 410 で検知する。

ナノ／マイクロ液体クロマトグラフでは使用溶媒量が極めて少ないため、溶媒の漏れがないかどうか、或いは、つまりによる異常な高圧が生じていないかどうか等、測定

時に正常に送液がされているかどうかの確認をすることが困難である。そこで、このような圧力計を流路に設置して液圧をモニターすることにより、正常に送液されているかどうかを確認することができる。すなわち、正常に定流量で送液されている場合には一定圧が検知され、例えば溶媒の漏れが生じている場合には圧力の減少によりそれを確認でき、また、つまりによる異常な高圧が生じている場合には圧力の増加によりそれを確認できる。

第二実施形態

図 2 に本発明の第二実施形態に係る方法を使用した送液系の概略構成を示す。なお、前記第一実施形態と対応する部分には符号 100 に変えて 200 を付し、説明を省略する。

本実施形態において特徴的なことは、あらかじめ第二溶媒送液部 242 の定量ポンプ 246 からそれに続く溶媒流路 250 の一部に渡り圧力に対する収縮率の小さい液体を満たしたことである。これにより、圧力付与による第二溶媒の体積収縮の影響を大幅に抑えることができる。本実施形態に係る送液方法の各ステップは以下の通りである。

第一ステップ

あらかじめ定量ポンプ 246 からそれに続く溶媒流路の一部に渡り圧縮率の小さい液体を満たしておく。例えば図 2 では、このような溶媒を入れたタンク 244 からポンプ 246 で六方バルブ 294 までの流路（第一貯槽手段）を満たしておく。

第二ステップ

六方バルブ 294 のポート a からポート b に渡る流路 296（第二貯槽手段）には、あらかじめ第二溶媒のタンク 290 からポンプ 292 により送液して第二溶媒を満たしておく。この流路 296 の容量は、測定に必要な量の第二溶媒を満たすだけの量があればよい。そして、六方バルブ 294 を同図の破線で示す経路に切り替え、流路 250 に、前述の圧縮率の小さい液体に続いて第二溶媒が満たされるようにする。

第三ステップ

初期溶媒を初期溶媒送液部 2 3 2 から溶媒混合部 2 5 2 を経て後続する分離系へ送液する。このとき、送液系は後続する分離系の抵抗により、徐々に高圧に達し、流路 2 5 0 へ流入した初期溶媒はあらかじめ満たされている第二溶媒を圧縮する。しかしながら、ポンプ 2 4 6 からそれに続く六方バルブ 2 9 4 までの流路は圧縮率の小さい液体で満たされているため、この比較的容量が大きい部分での体積収縮を抑えることができる。すなわち、図 5 の従来技術では、ポンプからそれに続く流路にわたり全て第二溶媒で満たされ、これが圧縮による体積収縮を受けるのに対し、図 2 の本実施形態では、測定に必要な量の第二溶媒は圧縮されるものの、それだけに抑えることができ、体積収縮に起因する流路 2 5 0 への初期溶媒の流入を大幅に抑えられる。

なお、圧縮率の小さい液体としては、第二溶媒より圧縮率が小さいものをその他の測定条件等により適宜選択することが好ましい。

第四ステップ

所定流量で第二溶媒を溶媒混合部 2 5 2 へ送液し、初期溶媒との所定比率の混合溶媒を後続する分離系へ送液する。以上のように本実施形態では、測定に必要な量の第二溶媒のみ使用したので、初期溶媒のみの送液から混合溶媒の送液へ切り替えるように意図した所定の時間からの遅延を低減することができる。

なお、三種以上の移動相溶媒を使用する場合には、送液部 2 4 2 に加えて他の溶媒を送液する各送液部を同じ態様で溶媒混合部 2 5 2 に接続して用いることができる。

定量ポンプ

以下、本発明に定量ポンプとして好適に使用されるシリンジポンプを図 3 に基づき説明する。図 3 に示すシリンジポンプ 3 0 0 では、ヘッド 3 0 4 にあらかじめ導入した溶媒をシリンジ 3 0 2 を駆動して流路 3 0 6 へ吐出する。ナノ／マイクロ液体クロマトグラフでは分離のために使用する溶媒が微量であることから、モータ 3 0 8 によるネジ 3 1 0 の回転駆動によりシリンジを一回押し切ることにより全溶媒の送液を行う。したがって、吸引、吐出の繰り返しによる脈動を生じることなく送液することが可能である。

このようなシリンジポンプを使用する場合、ポンプの温度変化が流量の変化を生じることがある。したがってポンプの温度を均一に保つ手段を適用することが好ましい。

しかしながら、適当な温度調整手段を用いてもこの温度変化による流量の変化が無視できない場合もある。この点を検討した結果、全送液中にヘッド304内に導入されるシリンジ部分の容量を小さくすることが流量変化の抑制に有効であることを見出した。

ポンプの温度変化が流量の変化を生じるのは、温度変化に起因する溶媒体積の変動と、シリンジ体積の変動、或いはその両方によると考えられる。例えば溶媒の密度は温度1℃の増加に対し概ね0.1%増加する。また、シリンジの体積も温度膨張する場合があると考えられる。したがって、前記シリンジ部分の容量を小さくすることでこれらの変動を抑えることができるものと考えられる。特に、該容量を1000 μ l以下とすることが好適である。

以上説明したように、本発明の装置および方法によれば、

- ①溶媒混合部近傍に第二溶媒流路を開閉可能な開閉手段を備え、あらかじめ送液部の定量ポンプから開閉手段に至る流路を第二溶媒で満たし、且つ該溶媒に適当な圧力を付与しておくこととしたので、初期溶媒の第二溶媒流路への流入を抑えることができる。この場合、初期溶媒送液部と送液部を液絡する液絡部を備えることで、初期溶媒からの圧力がそのまま第二溶媒へ付与されるので、適当な圧力付与操作を省くことができる。
- ②あらかじめ送液部の定量ポンプからそれに続く溶媒流路の一部に渡り圧縮率の小さい液体を満たしておき、該液体に続いて第二溶媒を必要量だけ満たしておくこととしたので、初期溶媒の第二溶媒流路への流入を抑えることができる。

請求の範囲

1. 初期溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く初期溶媒流路を備えた初期溶媒送液部と、

他の溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く溶媒流路を備えた一又は二以上の送液部と、

前記各流路が接続され、且つ該各流路からの各溶媒が所定比率で混合した混合溶媒が通る、後続する分離系への混合液流路が接続された溶媒混合部と、

後続する分離系へ送液する前記混合溶媒の混合比率を制御する制御部を備えたナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置において、

前記他の溶媒を送液する溶媒流路の溶媒混合部近傍に、該流路を開閉可能な開閉手段を備えたことを特徴とするナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置。

2. 請求項 1 記載の装置において、さらに初期溶媒送液部と送液部とを液絡する液絡部を備えたことを特徴とするナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置。

3. 初期溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く初期溶媒流路を備えた初期溶媒送液部と、

他の溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く溶媒流路を備えた一又は二以上の送液部と、

前記各流路が接続され、且つ該各流路からの各溶媒が所定比率で混合した混合溶媒が通る、後続する分離系への混合液流路が接続された溶媒混合部と、

後続する分離系へ送液する前記混合溶媒の混合比率を制御する制御部を備えたナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置において、

送液部の定量ポンプ及びそれに続く前記溶媒流路の一部で構成される、あらかじめ圧縮率の小さい液体を満たすための第一貯槽手段と、

第一貯槽手段に続く前記溶媒流路の一部で構成される、あらかじめ前記液体に続いて前記他の溶媒を必要量だけ満たしておくための第二貯槽手段を備えたことを特徴

とするナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置。

4. 請求項1～3のいずれかに記載の装置において、前記定量ポンプはシリンジを一回押し切ることにより全溶媒を送液するシリンジ型定量ポンプであることを特徴とするナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液装置。

5. 初期溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く初期溶媒流路を備えた初期溶媒送液部と、

他の溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く溶媒流路を備えた一又は二以上の送液部と、

前記各流路が接続され、且つ該各流路からの各溶媒が所定比率で混合した混合溶媒が通る、後続する分離系への混合液流路が接続された溶媒混合部を備え、

グラジエント溶離を行うため前記混合溶媒の混合比率を順次変化させて後続する分離系へ送液するナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法において、

前記他の溶媒を送液する溶媒流路の、溶媒混合部近傍に該流路を開閉可能な開閉手段を備え、以下のステップ：

開閉手段を閉じ、あらかじめ送液部の定量ポンプから開閉手段に至る流路を前記他の溶媒で満たし、且つ該溶媒に適当な圧力を付与しておく第一ステップ；

初期溶媒を初期溶媒送液部から溶媒混合部を経て後続する分離系へ送液する第二ステップ；

開閉手段を開放し、所定流量で前記他の溶媒を溶媒混合部へ送液し、初期溶媒との所定比率の混合溶媒を後続する分離系へ送液する第三ステップ；を含むことを特徴とするナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法。

6. 請求項5記載の方法において、初期溶媒送液部と送液部とを液絡する液絡部を備え、

第一ステップにおける溶媒への圧力付与を、第二ステップにおいて初期溶媒送液部に生じた圧力を該液絡部を介して送液部へ付与することにより行うことを特徴とす

るナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法。

7. 初期溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く初期溶媒流路を備えた初期溶媒送液部と、

他の溶媒を送液する定量ポンプ及びそれに続く溶媒流路を備えた一又は二以上の送液部と、

前記各流路が接続され、且つ該各流路からの各溶媒が所定比率で混合した混合溶媒が通る、後続する分離系への混合液流路が接続された溶媒混合部を備え、

グラジエント溶離を行うため前記混合溶媒の混合比率を順次変化させて後続する分離系へ送液するナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法において、以下のステップ：

あらかじめ送液部の定量ポンプからそれに続く溶媒流路の一部に渡り圧縮率の小さい液体を満たしておく第一ステップ；

前記溶媒流路に、前記液体に続いて前記他の溶媒を必要量だけ満たしておく第二ステップ；

初期溶媒を初期溶媒送液部から溶媒混合部を経て後続する分離系へ送液する第三ステップ；

所定流量で前記他の溶媒を溶媒混合部へ送液し、初期溶媒との所定比率の混合溶媒を後続する分離系へ送液する第四ステップ；を含むことを特徴とするナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法。

8. 請求項5～7のいずれかに記載の方法において、前記定量ポンプはシリンジを一回押し切ることにより全溶媒を送液するシリンジ型定量ポンプであることを特徴とするナノ／マイクロ液体クロマトグラフのグラジエント送液方法。

図 面

图 1

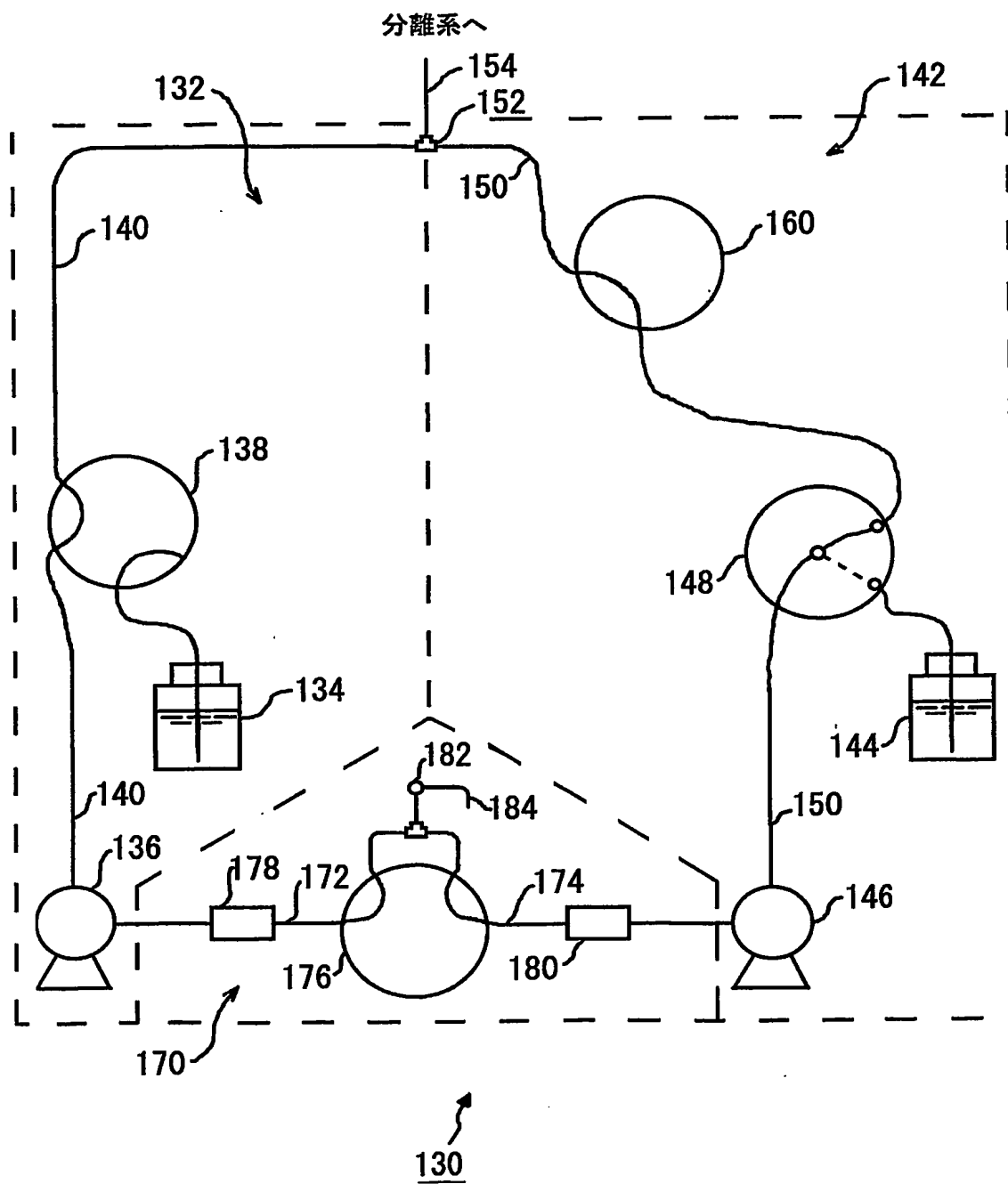


図 2

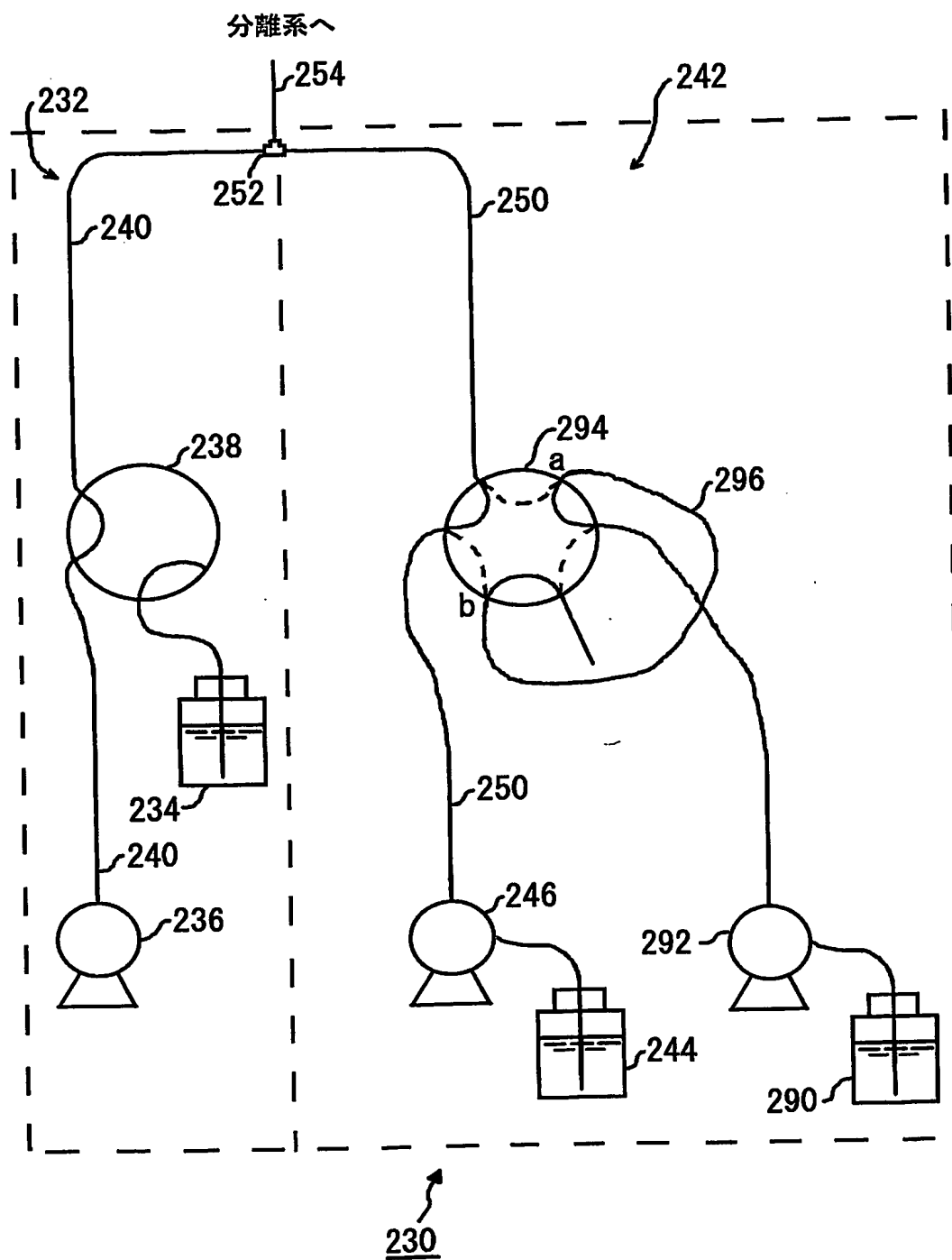


図 3

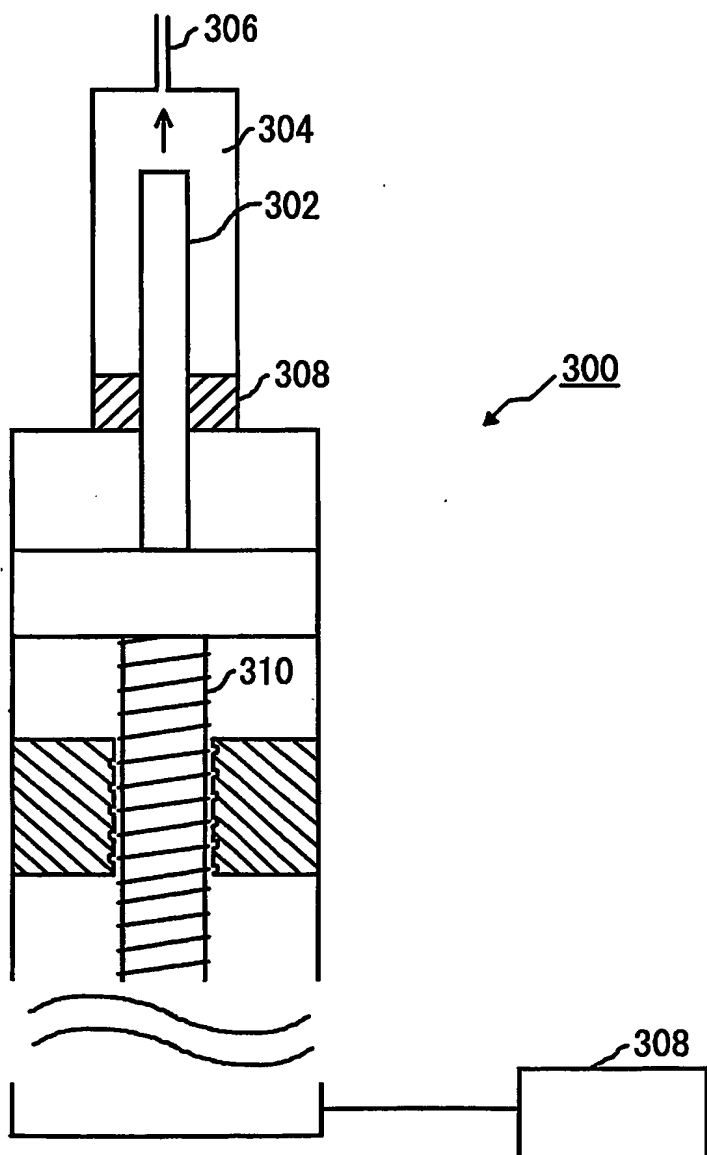


図 4

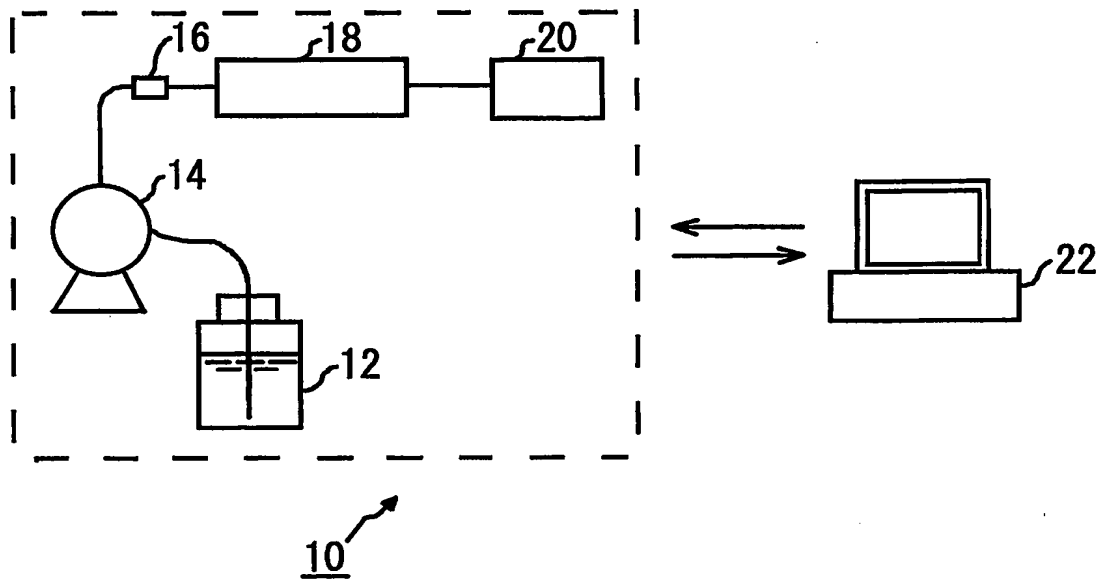


図 5

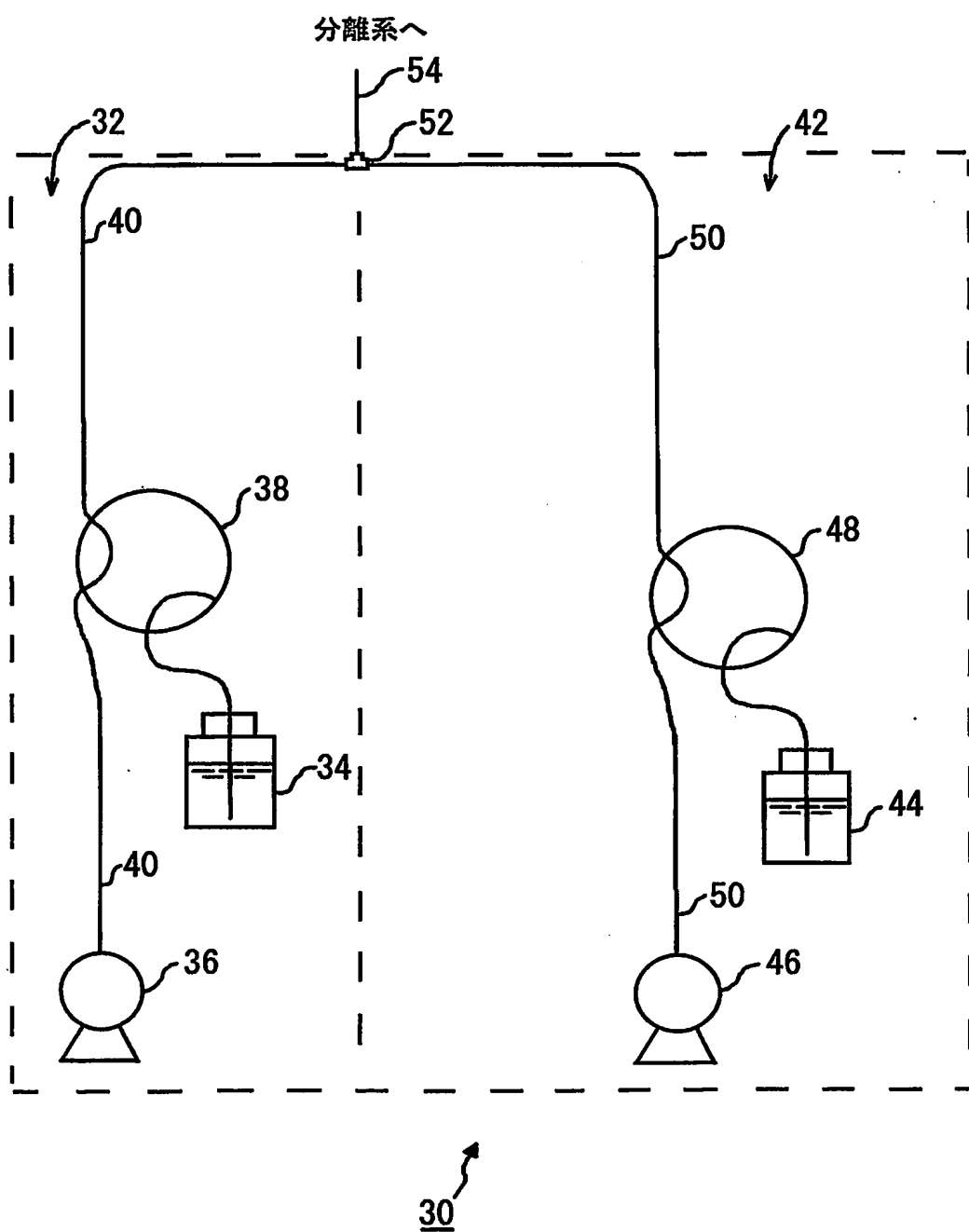


図 6

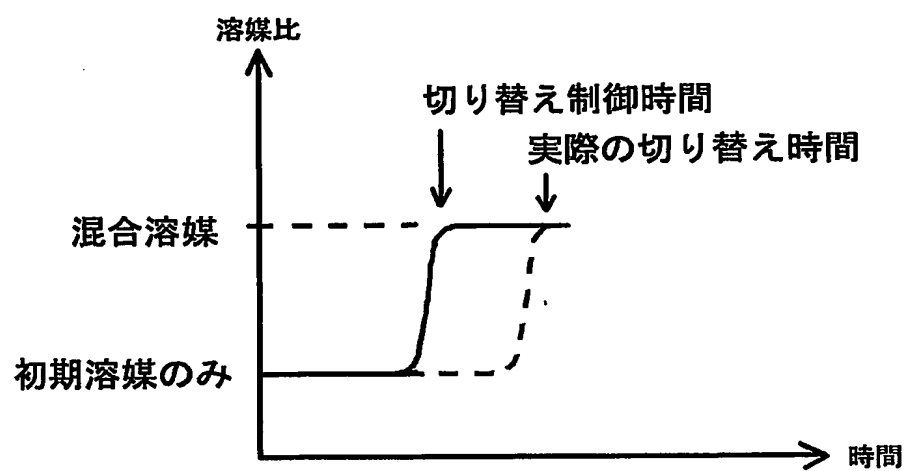
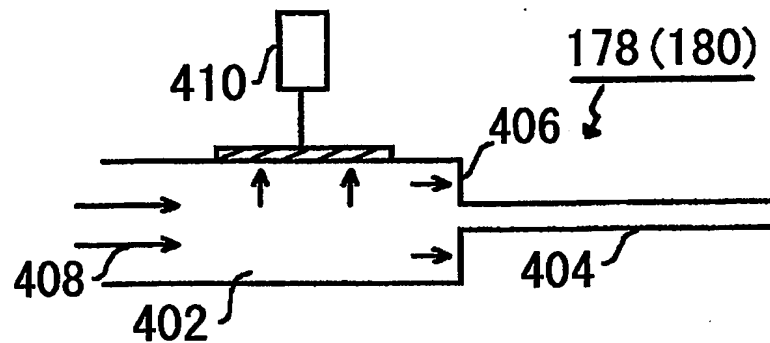


図 7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/09375

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N30/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N30/34

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

| | | | |
|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| Jitsuyo Shinan Koho | 1922-1996 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2003 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2003 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2003 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| A | JP 52-78498 A (Varian Associates), 01 July, 1977 (01.07.77), & DE 2649596 A & FR 2331019 A & US 4032445 A & GB 1515649 A & CA 1067312 A | 1-8 |
| A | JP 50-71389 A (Nippon Bunko Kogyo Kabushiki Kaisha), 13 June, 1975 (13.06.75), (Family: none) | 1-8 |
| A | JP 53-44085 A (Hitachi, Ltd.), 20 April, 1978 (20.04.78), (Family: none) | 1-8 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 September, 2003 (04.09.03)

Date of mailing of the international search report
16 September, 2003 (16.09.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/09375

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| A | JP 11-502931 A (The Perkin-Elmer Corp.), 09 March, 1999 (09.03.99), & WO 96/30757 A & AU 9653658 A & US 5656034 A & EP 871875 A & CA 2216861 A & DE 69621828 A | 1-8 |

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N 30/34

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N 30/34

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|-------------|------------|
| 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2003年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2003年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2003年 |

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| A | JP 52- 78498 A(バリアン・アソシエイツ)1977.07.01 & DE 2649596 A & FR 2331019 A & US 4032445 A & GB 1515649 A & CA 1067312 A | 1-8 |
| A | JP 50- 71389 A(日本分光工業株式会社)1975.06.13 (ファミリー無し) | 1-8 |
| A | JP 53- 44085 A(株式会社日立製作所)1978.04.20 (ファミリー無し) | 1-8 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.09.03

国際調査報告の発送日

2003.09.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

宮澤 浩



2 J

9407

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| A | JP 11-502931 A(ザ パーキン-エルマー コーポレーション) 1999.03.09 & WO 96/30757 A & AU 9653658 A & US 5656034 A & EP 871875 A & CA 2216861 A & DE 69621828 A | 1-8 |